

# EUROPEAN PATENT OFFICE

## Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 2000350563  
PUBLICATION DATE : 19-12-00

APPLICATION DATE : 10-06-99  
APPLICATION NUMBER : 11163383

APPLICANT : SNOW BRAND MILK PROD CO LTD;

INVENTOR : AOE SEIICHIRO;

INT.CL. : A23L 1/30 A23C 9/152 A23J 7/00 // A61K 31/00 A61K 31/685

TITLE : NUTRITION COMPOSITION FOR INFANT

ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject composition having a promoting action on maturation of gastrointestinal tract by making the composition include a specific substance or a phospholipid containing the substance.

SOLUTION: This nutrition composition for infant comprises sphingomyelin or a phospholipid containing sphingomyelin. In the preparation, preferably the composition contains 0.05-4.0 g of sphingomyelin based on 100 g solid content of the composition. Preferably the raw material of sphingomyelin used is preferably derived from milk and cow's milk a whey protein concentrate(WPC), etc., are used the raw material. A method for extraction with an ether or acetone (Japanese Unexamined Publication Number 3-47,192), etc., are used as a method for producing sphingomyelin from cow's milk, a whey protein concentrate(WPC), etc.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

JP2000350563

## CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The nutrition constituent for infants which has the alimentary canal maturation acceleration operation characterized by blending sphingomyelin or sphingomyelin content phospholipid.

[Claim 2] The nutrition constituent for infants according to claim 1 characterized by including 0.05g - 4.0g of sphingomyelins per 100g of solids of a constituent.

[Translation done.]

## DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the nutrition constituent for infants which blended sphingomyelin or sphingomyelin content phospholipid and which has an alimentary canal maturation acceleration operation. By taking in the nutrition constituent of this invention, maturation and development of an alimentary canal are promoted and effectiveness, such as improvement in digestion nature, is acquired.

[0002]

[Description of the Prior Art] Recently, about the nutrition constituent for infants, the product which is an ultimate target and which was fairly approximated to mother's milk in component is offered by improvement in a technique. However, in the functional side, the room of many amelioration is still left behind compared with mother's milk. On the other hand, a few [ in spite of containing many sphingomyelins in mother's milk / the research remains in cell RE \*\* RU, and / the research report about the physiological function in a living body, especially milk infancy ]. Therefore, the effectiveness as one component of the nutrient of sphingomyelin is not recognized. Moreover, if it calculates from the nutrition constituent which made cow's milk the subject also in content, and the analysis result (58 J. Nutr., vol. 116, pp.50- 1986) which Zeisel and others reported about the milk powder for puericulture especially, the average sphingomyelin content in mother's milk contains 0.0018 - 0.0071%, and below a moiety with the milk powder for puericulture after a formula to being 0.0144%. In addition, the nutrition constituents for infants in this invention are the modified milk prepared for sucklings, proteolysis milk, follow-up milk, specific nutrition modified milk or the modified milk prepared as an object for small children, and a baby food, and these do not ask gestalten, such as a liquefied article and retort workpiece and a desiccation article containing milk powder.

[0003] Moreover, although the lecithin which is the mixture of phospholipid is generally used as a natural emulsifier, sphingomyelin is not contained in typical soybean origin phospholipid as shown in Table 1. From such a thing, sphingomyelin is not enough supplied with the nutrition constituent for infants by which current offer is made.

[0004]

[Table 1]



linseed oil, Oenotherae Biennis oil, a medium-chain-fatty-acid triglyceride (MCT), or cotton seed oil, and a pan. As a source of sugar, oligosaccharides, such as a lactose, a maltose, grape sugar, cane sugar, a dextrin and a galactosyl lactose, a fructo oligosaccharide, and lactulose, an artificial sweetener, fusibility polysaccharide, or starch can be used.

[0008] "As a vitamin and the source of a mineral CODEX specification and the related health activity regulation containing infant food of particular application food, CAC/VOL.IX- the 1st edition and Supplement 1, 2, and 3, and 4" (Japanese international dairy league issue and 1993) 1993 "edition assignment item food additive handbook (the 31st edition of revision) (food, science company issue, and 1993)" Or "a report-to-authorities food additive and food material natural product handbook" (the 12th edition) (food, science company issue, and 1992) What can be used can be used for infant food in the vitamins of a publication, and minerals. For example, as vitamins, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E, a vitamin K, a folic acid, pantothenic acid, beta carotene, nicotinamide, etc. can be mentioned, and calcium, magnesium, iron, copper, zinc, iodine, manganese, a selenium, etc. can be mentioned as minerals. Moreover, in order to blend sphingomyelin with the nutrition constituent for infants and to demonstrate an alimentary canal maturation acceleration operation, when the intake of the usual nutrition constituent is taken into consideration, it is desirable to make it 0.05g or more of sphingomyelins included per 100g of solids of a constituent, but even if it blends exceeding 4.0g, effectiveness does not change so much.

[0009]

[The example 1 of reference] <Preparation of the sphingomyelin content phospholipid of the cow's milk origin> After the chloroform-methanol (2:1) solution extracted the reaction mixture which the protease was made to act on 10% water solution of a whey protein concentrate (WPC), and was obtained, it condensed, the acetone extraction was carried out further, and the conjugated lipid fraction was obtained. Next, FURORO silyl column-chromatography processing of this conjugated lipid fraction was carried out, the phase extract was carried out with the chloroform-methanol solution, and the phospholipid fraction was obtained. Silica gel chromatography processing of this phospholipid fraction was carried out, the fraction obtained by carrying out a phase extract with the chloroform-methanol solution was freeze-dried, and sphingomyelin content phospholipid was obtained. Sphingomyelin content was 95.2%, when it colored by Dittmer's reagent and measured by the densitometry method, after carrying out thin-layer chromatography processing of this sphingomyelin content phospholipid.

[0010]

[Example 1] To 24kg of <manufacture of infant formula using sphingomyelin> skim milks, 750g (WPC) of whey protein concentrates, The addition dissolution of the 4.4kg of the lactoses is carried out. To this Water soluble vitamins (vitamin-B1, vitamin-B2, vitamin-B6, vitamin B12, vitamin C, niacin, a folic acid, pantothenic acid, a biotin, a choline, inositol) minerals (a calcium carbonate, potassium chloride, magnesium sulfate, and sodium ferrous citrate --) 2.39kg of preparation fats which dissolved 100g, sphingomyelin 10g, and fat soluble vitamins (vitamin A, vitamin D, vitamin E, a vitamin K, beta carotene) for the copper sulfate and the zinc sulfate, respectively was mixed, and it homogenized. The obtained solution was sterilized, it condensed and dried with the conventional method, and 10kg of milk powder was obtained. Sphingomyelin 13mg /

100ml were contained in the modified milk which dissolved in warm water and adjusted this milk powder to 13% of rates of a solid.

[0011]

[Example 2] To 24kg of <manufacture of infant formula using sphingomyelin content lipid of the cow's milk origin> skimmilks, 750g (WPC) of whey protein concentrates, The addition dissolution of the 4.4kg of the lactoses is carried out. To this Water soluble vitamins (vitamin-B1 , vitamin-B2 , vitamin-B6 , vitamin B12, vitamin C, niacin, a folic acid, pantothenic acid, a biotin, a choline, inositol) minerals (a calcium carbonate, potassium chloride, magnesium sulfate, and sodium ferrous citrate --) 2.0kg of preparation fats which dissolved 50g of sphingomyelin content phospholipid and fat soluble vitamins (the vitamin A, the vitamin D, the vitamin E, the vitamin K, beta carotene) of the cow's milk origin obtained in 100g and the example 1 of reference in the copper sulfate and the zinc sulfate, respectively was mixed, and it homogenized. The obtained solution was sterilized, it condensed and dried with the conventional method, and 10kg of milk powder was obtained. Sphingomyelin 17.7mg / 100ml were contained in the modified milk which dissolved in warm water and adjusted this milk powder to 13% of rates of a solid.

[0012]

[The example 1 of a trial] The experiment which carries out artificial childcare of the S.D. system rat of a <verification test of alimentary canal maturation acceleration operation> breast-feeding term using the synthetic milk prepared to rats was conducted. After setting up the group (addition group) which prescribes for the patient the synthetic milk (sphingomyelin content of 2.2g in 100g of solids) which added 0.5% (w/v) of sphingomyelin content phospholipid of the cow's milk origin obtained in the example 1 of reference, and the group (additive-free group) which prescribes additive-free synthetic milk for the patient and performing a stomach cannulation operation to the rat of seven ages in day, artificial childcare was carried out \*\*\*\*(ing) by the syringe pump. After having abstained from food on the 6th day of artificial childcare, having dissected on the 7th, extracting the small intestine and measuring the weight and die length, the lactase which are scraping and a tunica-mucosa-intestini-tenuis enzyme in a cover glass about the tunica mucosa intestini tenuis, a maltase, and the disaccharide hydration enzyme activity and leucine aminopeptidase (LAP) activity of sucrase were measured under the ice temperature. The weight of a small intestine and the measurement value of die length are shown in Table 2.

[0013]

[Table 2]

Weight and die length of a small intestine (average \*\* standard deviation)

----- An addition group Additive-free group Weight (g) 1.61\*\*0.11  
\* 1.23\*\*0.16 Die length (cm) 55.6\*\*2.08 \* 49.6\*\*3.66 ----- \* ; p<  
0.05 (mann-whitney Utest)

[0014] Activity measurement of the tunica-mucosa-intestini-tenuis enzyme in Table 3 was performed by the following approaches. The homogeneity fraction was prepared with the homogenizer after suspending the tunica mucosa intestini tenuis in a cold physiological saline. It is Lowry about the protein content of the homogeneity fraction of this tunica mucosa intestini tenuis. It measured by law. Measurement of disaccharide hydration enzyme activity uses a lactose, a maltose, and a sucrose for a substrate, and is

substrate solution 50microl and homogeneity fraction 50microl of the tunica mucosa intestini tenuis. It mixed and 37 degrees C incubated for 30 minutes. reaction mixture 20microl \*\*\*\*\* -- the amount of glucoses which was decomposed by the enzyme and separated was measured using the kit for glucose measurement (Wako Pure Chem industrial company make). The amount of glucoses (mumol) which separates in 1 minute by 1g of protein of the homogeneity fraction of the tunica mucosa intestini tenuis showed activity. Measurement of leucine aminopeptidase (LAP) activity used the kit for leucine aminopeptidase (LAP) activity measurement (Wako Pure Chem industrial company make). The result is shown in Table 3. In addition, the rise of the increment in weight of a small intestine, elongation of a small intestine, the fall of lactase activity, sucrase activity, maltase activity, and LAP activity was made into the index of alimentary canal maturation.

[0015]

[Table 3]

Activity of a tunica-mucosa-intestini-tenuis enzyme (average \*\* standard deviation)

----- Addition group Additive-free group Lactase activity

38.42\*\*17.49 \* 93.42\*\*20.67 (mumol/min/g protein)

Sucrase activity 42.98\*\*16.58 \* 12.65\*\* 6.80 (mumol/min/g protein) Maltase activity

365.55\*\*49.93 \* 280.68\*\*38.65 (mumol/min/g protein) LAP activity 101.30\*\*43.95 \*

60.76\*\*18.52 (IU/g protein) ----- \*,p<0.05 (mann-whitney

Utest)

[0016] It was admitted that the weight of a small intestine increased an addition group compared with an additive-free group, and the die length of a small intestine was developing from Table 2. Moreover, as shown in Table 3, the lactase activity of an addition group fell and sucrase activity, maltase activity, and LAP activity rose.

[0017] Usually, lactase activity falls at a breast-feeding anaphase, and sucrase activity and maltase activity rise. This is because the sucrase for ablactation approaching, and the need for the dialytic ferment lactase of the lactose which is coming to take in food other than milk little by little, and is the only sugar in milk falling, and decomposing cane sugar and a maltose, and the need for a maltase increase. Therefore, the activity of these disaccharide hydrolase is reflecting soon change of the small intestine function which lasts to the weaning period from a breast-feeding term. Leucine aminopeptidase (LAP) activity rises with maturation of an alimentary canal from the breast-feeding term as an enzyme which participates in proteinic terminal digestion. Since lactase activity fell and sucrase activity, maltase activity, and LAP activity rose in this experiment, as for the addition group, it turned out that the function of a small intestine has matured more as compared with an additive-free group. Sphingomyelin became clear [ promoting maturation of an alimentary canal ] from the above thing.

[0018]

[Effect of the Invention] Since the sphingomyelin or sphingomyelin content phospholipid used by this invention has the operation which promotes maturation and development of an alimentary canal and becomes remarkable [ effectiveness, such as improvement in digestion nature, ], the constituent containing these is useful as physic or food. Moreover, since maturation and development of infants' alimentary canal are promoted and it has effectiveness, such as improvement in digestion nature, by taking in as a baby food prepared as the modified milk prepared for sucklings, proteolysis milk, follow 1 rise

milk, specific nutrition modified milk, or an object for small children, it is useful especially as a nutrition constituent for infants.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-137894

(P2003-137894A)

(43) 公開日 平成15年5月14日 (2003. 5. 14)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テーマコード\* (参考)

C 0 7 F 9/09

C 0 7 F 9/09

U 4 C 0 8 6

A 6 1 K 31/661

A 6 1 K 31/661

4 H 0 5 0

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 9/00

9/10

9/10

1 0 1

1 0 1

審査請求 未請求 請求項の数13 O L (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-340853 (P2001-340853)

(22) 出願日 平成13年11月6日 (2001. 11. 6)

(71) 出願人 301021533

独立行政法人産業技術総合研究所  
東京都千代田区霞が関1-3-1

(71) 出願人 000003274

マルハ株式会社  
東京都千代田区大手町1丁目1番2号

(72) 発明者 玉井 忠和

茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会  
社中央研究所内

(74) 代理人 100089705

弁理士 社本 一夫 (外5名)

最終頁に続く

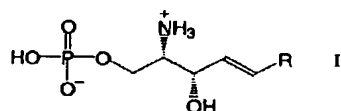
(54) 【発明の名称】 アミノアルコールリン酸化合物、製造方法、及びその利用方法

(57) 【要約】

【課題】 Edg (endothelial differentiation gene、血管内皮細胞分化遺伝子) 受容体へ拮抗する医薬を提供する。

【解決手段】 一般式 I

【化1】



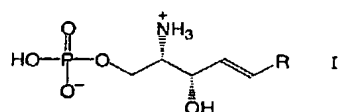
(式中、Rは、置換されてもよい直鎖状または分岐鎖状の  $\text{CH}_3\text{C}_n\text{H}_{(2n-2m)}-$  (nは、2から19の間のいずれかの整数であり、mは、不飽和数を表し、0から3の間のいずれかの整数である) または置換されてもよいアリール基である) で表される、スレオ型 (2S, 3S) アミノアルコール-1-リン酸化合物またはその製薬学的に許容される塩。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 一般式 I

【化 1】

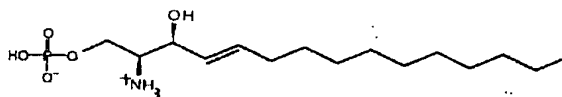


(式中、Rは、置換されてもよい直鎖状または分岐鎖状の $\text{CH}_3\text{C}_n\text{H}_{(2n-2m)}-$  (nは、2から19の間のいずれかの整数であり、mは、不飽和数を表し、0から3の間のいずれかの整数である) または置換されてもよいアリール基である) で表される、スレオ型 (2S, 3S) アミ

ノアルコール-1-リン酸化合物またはその製薬学的に許容される塩。

【請求項 2】 一般式 I が下記式：

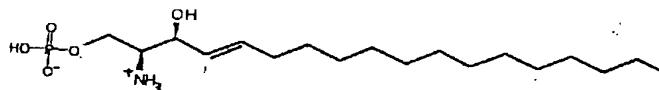
【化 2】



で表される、請求項 1 に記載の化合物またはその製薬学的に許容される塩。

【請求項 3】 一般式 I が下記式：

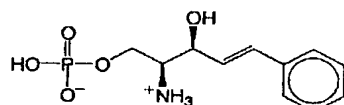
【化 3】



で表される、請求項 1 に記載の化合物またはその製薬学的に許容される塩。

【請求項 4】 一般式 I が下記式：

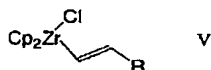
【化 4】



で表される、請求項 1 に記載の化合物またはその製薬学的に許容される塩。

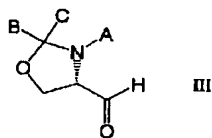
【請求項 5】 (1) 一般式 V

【化 5】



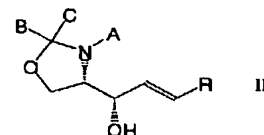
(式中、Rは、置換されてもよい直鎖状または分岐鎖状の $\text{CH}_3\text{C}_n\text{H}_{(2n-2m)}-$  (nは、2から19の間のいずれかの整数であり、mは、不飽和数を表し、0から3の間のいずれかの整数である) または置換されてもよいアリール基であり、Cpはシクロペンタジエニル基を表す) で表される有機ジルコニウム化合物に、ジアルキル亜鉛を作用させて調製したアルケニル化剤と、一般式 I I I のN-保護した (S) -ホルミルオキサゾリジン化合物：

【化 6】



(式中AはNの保護基であり、B及びCはアルキル基である) とを反応させて、一般式 I I のスレオ体 (2S, 3S) を選択的に得ること、

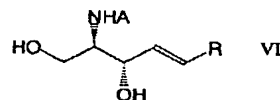
【化 7】



(式中、R、A、B及びCは前記定義と同じ)

(2) 化合物 I I のオキサゾリンを開環してアセタール型保護基を除去し、アミノ基が保護された一般式 V I のアルコール化合物を得ること：

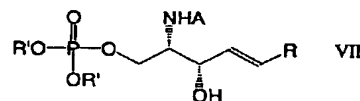
【化 8】



(式中、R及びAは前記定義と同じ)

(3) 一般式 V I の化合物から下記一般式 V I I の1-リン酸類縁体化合物へ変換すること：

【化 9】



(式中、R及びAは前記定義と同じであり、R' は低級アルキル基である)

(4) 一般式 V I I の化合物のアミノ基及びリン酸基の各保護基を除去することを含む、請求項 1 の化合物の製造法。

【請求項 6】 請求項 1 ~ 請求項 4 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその製薬学的に許容される塩を有効成分として含有する、内皮分化遺伝子 (Edg) 受容体に拮抗する医薬。

【請求項 7】 循環器系疾患を治療または予防するための請求項 6 の医薬。

【請求項 8】 循環器系疾患が動脈硬化症である請求項 7

の医薬。

【請求項 9】ガンを治療または予防するための請求項 6 の医薬。

【請求項 10】リウマチを治療または予防するための請求項 6 の医薬。

【請求項 11】糖尿病性網膜症を治療または予防するための請求項 6 の医薬。

【請求項 12】呼吸器系疾患を治療または予防するための請求項 6 の医薬。

【請求項 13】循環器系疾患が心臓疾患である請求項 7 の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

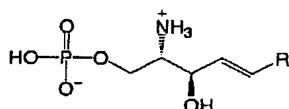
【発明の属する技術分野】本発明は新規なアミノアルコールリン酸化合物、その製造方法、及びその利用方法に関するものである。かかる化合物は 内皮分化遺伝子 endothelial differentiation gene (Edg) 受容体に拮抗し、抗循環器系疾患性（例えば、抗動脈硬化性、抗心臓疾患性（例えば、抗不整脈性、抗心筋梗塞性））、抗リウマチ性、抗がん性、抗糖尿病性網膜症性や抗呼吸器系疾患性を示す医薬として有用である。

【0002】

【従来の技術】近年の医学・生化学分野における研究により、生体におけるスフィンゴ脂質類の重要性が明らかになってきており、スフィンゴ糖脂質は細胞間相互認識、細胞増殖調節、発生・分化の調節、感染及び細胞の悪性化等において重要な役割を果たすことが示唆されている。

【0003】一方、スフィンゴ脂質類の分解代謝産物であるスフィンゴシン-1-リン酸 (SPN-1P)

【化10】



についてはその役割が未知であったが、近年、SPN-1Pを内因性リガンドとするオーファン受容体 endothelial differentiation gene (Edg)が見出され、生理作用が次第に明らかになってきた。

【0004】Edgは1990年にオーファン受容体として遺伝子がクローニングされた[Edg-1(JBC, '90, 265, p. 9308)]が、その後、Edg-1のホモログとして、Edg-3(BBRC, '96, 227, p. 608)、Edg-5(AGR 16/H 218)(JCB, '96, 135, p. 1071)が得られたものの、その生理的役割は不明だった。ところが、'98年、SPN-1PがEdg-1の内因性リガンドとなっている可能性が示唆され(Science, '98, 279, p. 1552)、その後、Edg-3、及びEdg-5もSPN-1P特異的受容体である事が示された(BBRC '99, 260, p. 263、JBC '99, 274, p. 18997)。

【0005】血管内皮細胞上の Edg-1が SPN-1Pの刺激によって、カドヘリンなど接着タンパク質をアップレギュレートし(Science, '98, 279, p. 1552)、Tリンパ球由来株化細胞が、SPN-1Pの刺激によって、in vitro疑似血管モデルでの血管層侵入を増長する(EMBO J., '98, vol. 17, No. 14, p. 4066)。また、岡島らはEdg-1、或いは Edg-3を強制発現させた CHO細胞を用い、疑似血管遊走試験を行ったところ、どちらの場合も、SPN-1P濃度依存的に遊走が促進した('99年日本生化学会大会要旨集 p. 883)。一方、五十嵐らは、がん細胞株 F10が疑似血管モデルにてSPN-1P  $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  Mにて濃度依存的に最大80%ほど遊走抑制を受ける事を示したが、F10細胞では Edg-1、或いは Edg-3は殆ど発現しておらず、Edg-5が発現していた('99年日本生化学会)。発現亜種が異なる事が原因となって、SPN-1Pが遊走抑制を示した可能性が指摘されている('99年生化学会大会要旨集 p. 675, 883)。

【0006】血管平滑筋細胞(Eur. J. Biochem. '98, 257, p. 403)、或いは気道平滑筋細胞(Biochem. J. '99, 338, p. 643)で、どちらも、SPN-1P応答性にMAPキナーゼ活性化が観察されており、SPN-1Pが血管平滑筋増殖の方向に作用する可能性が指摘されている。

【0007】杉山らは、ラットにSPN-1Pを尾静脈経路で投与し血行動態を観察したところ、収縮期血圧、及び左心室圧時間微分の二指標の有意な低下を観察し、SPN-1Pが、in vivoにおいて、心機能低下の方向に作用している可能性を示した('00年薬理学会要旨集 P. 127)。モルモット、マウス、及びヒトの冠動脈平滑筋培養細胞において、ムスカリン受容体内向き  $K^+$ 整流を、Edg-3経由で SPN-1Pが活性化し、SPN-1Pが呼吸困難などを引き起こす迷走神経を刺激している可能性が指摘されている(Molecular Pharmacology, '00, 58, 449)。また、ウサギ洞房細胞の培養において、自発的ペースメーカーの周期を SPN-1Pが伸長する事より、SPN-1Pが心臓の拍動周期に対し負の作用を示している可能性が示唆されている(Pfugier Arch - Eur J Physiol '99, 438, 642)。

【0008】血管内皮細胞に及ぼすSPN-1Pの作用を、血管新生動物モデルを用いて検討した結果、VEGFやFGF-2などの増殖因子による血管新生を、SPN-1Pが Edg-1、Edg-3と結合する事によって相乗的に促進させ、Edgがリウマチ、固形がんや糖尿病性網膜症の進行に作用している可能性が指摘されている(Cell '99, p. 301)。

【0009】SPN-1PとEdg受容体の結合によって引き起こされる過剰な炎症や気道のリモデリングの結果、肺炎、慢性閉塞性気道疾患(COPD: chronic obstructive airway disease)、呼吸器系高血圧が進行する可能性が指摘されている(Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2000, 13, p. 99)。

【0010】原虫トリパノゾーマの撲滅薬、スラミンが Edg - 3 特異的な拮抗性を示し、SPN- 1P と Edg の結合のシグナルを阻止する事が報じられている (J. B. C. '99, 274, 27, p. 18997)。スラミンは動脈硬化病態モデルに治療的に奏効する事が示されている (Circulation, '99, 100, p. 861, Cardiovascular Res., '94, 28, p. 1166) が、この薬効の機作に Edg 拮抗性が絡んでいる可能性が考えられる。

【0011】以上の知見を総合すると、SPN - 1P が Edg と結合すると、炎症性細胞活性化や血管平滑筋細胞増殖、血行動態悪化など動脈硬化促進的に作用する。また、血管新生を促進し、リウマチ、固形ガン、糖尿病性網膜症の進行の方向に作用する可能性が示されている事になる。即ち、Edg に拮抗する物質が、抗動脈硬化性、抗心臓疾患性などの抗循環器系疾患性、抗リウマチ性、抗ガン性、抗糖尿病性網膜症性及び抗呼吸器系疾患性を示す可能性が考えられる。したがって、スフィンゴ脂質類を各種合成し、Edg 拮抗活性を有する物質を見出すことはこれらの疾患の治療薬を創製する上で極めて重要である。しかしながら、スフィンゴ脂質類の合成には多くの段階を要するため、これまで構造活性相関研究はほとんどなされていない。

【0012】これまでは主に天然型基本骨格として最も多く存在する 3 位水酸基の立体異性体に相当する D-エリスロ型 (2S, 3R 体) スフィンゴシンの化学合成法が研究され、多くの報告がなされている。しかしながら、天然型とは立体配置の異なる L-スレオ型 (2S, 3S 体) を選択的に合成することは以下に説明するように容易ではなく、また、そのリン酸化体は合成されていなかった。

【0013】これまでの合成例としては不斉アルドール型反応を利用する方法 (伊藤ら, Tetrahedron Lett., 1988, Vol. 29, p. 239; E. J. Corey ら, Tetrahedron Lett., 2000, Vol. 41, p. 2765) 等が報告されているが、途中の工程で用いる試薬が特殊である、あるいは煩雑な操作を要するなどの問題点があった。また天然エリスロ型の 3 位水酸基を反転させる方法も知られているが、隣接した 4 位に二重結合があるため位置異性体を生じやすいなどの問題点があった。

【0014】アミノ酸 L-セリンを出発原料としてスレオ型スフィンゴシンを製造する方法も知られている (P. Herold, Helv. Chim. Acta, 1988, Vol. 71, p. 354; I. Van Overmeire ら, J. Med. Chem., 1999, Vol. 42, p. 2697) が、この方法ではスレオ型のプロパルギルアルコール類を得てから、三重結合を還元してアルケン (二重結合) 化しており、簡便とはいえない。

【0015】アルデヒド化合物に対して直接、アルケニル化剤 (アルケニル化金属試薬) を作用させて、保護されたスフィンゴシンの 3 位水酸基に関する 2 つの立体異性体、エリスロ体とスレオ体を生成する方法は知られている。しかし、これらの異性体の生成比は金属種、溶

媒、添加する触媒、反応温度等により変化しやすいため選択的に異性体を製造するための条件設定がむずかしく、また、クロマトグラフィー等による異性体の分離が困難である。さらに、エリスロ選択的に得られる方法は知られているが (特開平 7-291904 号公報, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1994, p. 1257)、スレオ選択的に得られる方法は知られていない。したがって、スレオ体を立体選択性の高い反応により得る簡便な方法が望まれる。

【0016】

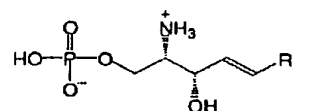
【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、Edg 受容体拮抗活性を有する新規なアミノアルコールリン酸化合物、その簡便な製造方法及び利用方法を提供することにある。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、スレオ型アミノアルコール化合物は Edg 受容体拮抗作用がないにもかかわらず、そのリン酸体である以下の一般式 I 化合物 (以下、「本発明化合物」という) が Edg 受容体拮抗作用を有すること、また、その化合物を立体選択性に優れた合成経路により簡便に製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0018】本発明は、下記一般式 I

【化 11】



(式中、R は、置換されてもよい直鎖状または分岐鎖状の  $\text{C}_m\text{H}_{(2n-2m)} -$  (n は、2 から 19 の間のいずれかの整数であり、m は、不飽和数を表し、0 から 3 の間のいずれかの整数である) または置換されてもよいアリール基である) で表される、スレオ型 (2S, 3S) アミノアルコール-1-リン酸化合物またはその製薬学的に許容される塩に関する。

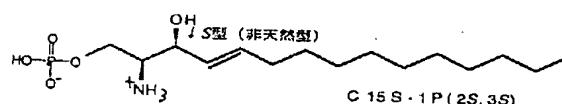
【0019】

【発明の実施の形態】前記一般式 I における置換基について説明する。「置換されてもよい  $\text{C}_m\text{H}_{(2n-2m)} -$ 」の置換された  $\text{C}_m\text{H}_{(2n-2m)} -$  とは、例えば、水酸基、ハロゲン原子、炭素数 1 から 10 の直鎖でも分岐鎖でもよいアルキル基若しくはアルコキシ基及びアリール基からなる群から選択される 1 つ以上で置換された  $\text{C}_m\text{H}_{(2n-2m)} -$  をいう。「アリール基」の具体例としては、フェニル基、1-ナフチル基および 2-ナフチル基などがあげられる。「置換されてもよいアリール基」の置換されたアリール基とは、例えば、炭素数 1 から 10 の直鎖でも分岐鎖でもよいアルキル基若しくはアルコキシ基、ニトロ基及びハロゲン原子からなる群から選択される 1 つ以上で置換されたアリール基をいう。

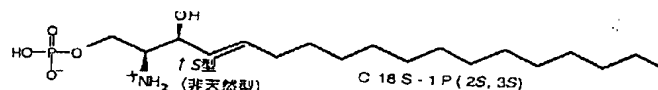
【0020】Rの好ましい態様としては、以下のものがあげられる。nは、好ましくは5-16であり、さらに好ましくは9-12である。mは、好ましくは0-1であり、さらに好ましくは0である。不飽和結合の位置は、nが12のとき、8位が好ましい。

【0021】本発明の式I化合物の特に好ましい化合物を以下にあげる。

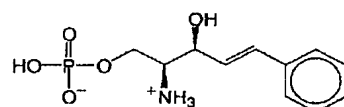
【化12】



【化13】



【化14】



【0022】本発明の化合物の塩としては、製薬学的に許容されるものであれば特に制限されず、例えば、メタンスルホン酸塩、トリフロロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩などの低級アルキルスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などのアリールスルホン酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩などのカルボン酸塩、グリシン塩、アラニン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩などのアミノ酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩などがあげられる。

【0023】本発明化合物はいずれも内皮分化遺伝子

(Edg) 受容体拮抗性を示し、Edgに対するSPN-1PなどのEdg受容体作動物質の結合に拮抗し、これらによる細胞内シグナル伝達系を阻止することができる。また、本発明化合物は、これらを医薬の必須成分として使用した場合、医薬の通常の他の成分と配合しても、前記特性が有効に発現することが認められた。従って、本発明は、本発明化合物を有効成分として含有する、内皮分化遺伝子(Edg)受容体に拮抗する医薬を提供する。また、本発明は、炎症性細胞活性化や血管平滑筋増殖、血行動態悪化、さらに血管新生によって生じる疾患、例えば、循環器系疾患(例えば、動脈硬化、心臓疾患(例えば、心筋梗塞、不整脈))、リウマチ(例えば、慢性関節リウマチ)、がん、糖尿病性網膜症、呼吸器系疾患(例えば、肺炎、慢性閉塞性気道疾患、呼吸器系高血圧)を予防若しくは治療するための上記医薬を提供する。ここで、「循環器系疾患」とは、血液、リンパなどの循環状態が障害され、組織や細胞に障害をおこしている疾患をいい、例としては、動脈硬化性疾患(例えば、アテローム(粥状)硬化症)、心臓疾患(例えば、心筋梗塞、不整脈)がある。ここで、「呼吸器系疾患」とは、気管、気管支、肺などの呼吸器が障害されている疾患及びそれに関連した症候をいい、例としては、喘息

(即時型、遅発型、アレルギー性喘息等)、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、好酸球浸潤、気管支炎(慢性気管支炎等)、気道炎症、肺気腫、肺炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、急性呼吸窮迫症候群、呼吸器系高血圧、呼吸困難、疼痛、咳、痰、嘔吐、息切れがある。

【0024】本発明の化合物を医薬として用いるためには、固体組成物、液体組成物、及びその他の組成物のいずれの形態でもよく、必要に応じて最適のものが選択される。医薬組成物は、本発明の化合物に製薬学的に許容されるキャリアー、すなわち常用の賦形剤、増量剤、結合剤、崩壊剤、pH調整剤、溶解剤、などを添加し、常用の製剤技術によって、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、粉剤、液剤、乳剤、懸濁剤、注射剤、などに調製することができる。賦形剤、増量剤としては、たとえば、乳糖、ステアリン酸マグネシウム、デンプン、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、オリーブ油、ゴマ油、カカオバター、エチレングリコールなどやその他常用されるものをあげる事ができる。製剤の酸化を防止するためには、酸化防止剤(トコフェロール等)を添加したり、シクロデキストリン等の包接剤で包接したり、ゼラチン等の皮膜でカプセル化することができる。更に、前記化合物を、乳化剤として、リン脂質あるいは非イオン界面活性剤を用いて、O/W型製剤として、特開平6-298642に記載のように調製することができる。乳化剤は、単独あるいは2種以上組み合わせて使用でき、添加量は、適宜でよいが、0.001~10%(W/V)、好ましくは0.01~5%(W/V)である。リン脂質としては、大豆由来リン脂質、卵黄由来リン脂質、リゾレシチン、フォスファチジルコリン(レシチン)、フォスファチジルセリンなどの単独あるいは組み合わせが使用可能である。非界面活性剤としては、分子量500~15000のポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体(例えば、プルロニックF-68)、分子量1000~10000のポリアルキレングリコール、分子量1000~20000のポリオキシアルキレン共重合体、硬化ヒマシ油ポリオキシアルキレン誘導体、ヒマシ油ポリオキシアルキレン誘導体、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチ

レンヒマシ油、硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ショ糖脂肪酸エステルなどの単独あるいは組み合わせが好適に用いられるがこれに限定されない。本発明に於ける各化合物の配合量は医薬を基準として約0.0001～約100 mg/kg体重/日を1日1回又は数回に分けて経口又は非経口で投与することができる。この投与量は、疾患の種類、患者の年齢、体重、症状により適宜増減することができる。

【0025】本発明の化合物は、以下の製造法によって製造することができる。式Iの化合物の製造法について、反応原料の調製例を含めて以下に説明する。

#### (1) 反応原料の調製例

##### (A) アルケニル化剤の合成



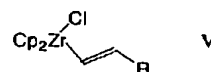
上記反応は、一般式Vで表される有機ジルコニウム化合物に対し、好ましくは当量量のジアルキル亜鉛を用いて行うことができる。ジアルキル亜鉛としては低級ジアルキル亜鉛（例えば、ジメチル亜鉛またはジエチル亜鉛）が好適である。一般式Vで表される有機ジルコニウム化合物は、公知の方法（J. Schwartzら, Org. Synth., 1992, Vol. 71, p. 83）により、水素化ジルコノセンクロリドと1-アルキンまたはアリールアセチレン類を有機溶媒中で作用させることにより調製される。一般式Vで表される有機ジルコニウム化合物の生成に用いる水素化ジルコノセンクロリドは市販品を用いることができ、また公知の方法（S. L. Buchwaldら, Org. Synth., 1992, Vol. 71, p. 77）により安価な二塩化ジルコノセンから調製することもできる。一般式Vで表される有機ジルコニウム化合物の生成に用いる1-アルキンは炭素数5から22の直鎖状または分岐状のものを用いることができ、また分子内に二重結合が含まれていてもよい。具体的には1-オクチン、1-ドデシン、1-ペンタデシン等であり、特に炭素数15の1-ペンタデシンの場合は天然物中に最も多いC18スフィンゴシンが得られる。また、アリールアセチレン類を用いることもでき、アリール上に置換基を有してもよい。具体的には、フェニルアセチレン、4-クロロフェニルアセチレン、1-ナフチルアセチレン等である。

##### 【0026】(B) N-保護した(S)-ホルミルオキサゾリジン誘導体の合成

下記式IIのN-保護した(S)-ホルミルオキサゾ

一般式V

【化15】

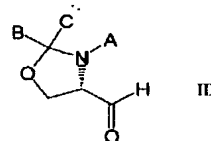


（式中、Rは、置換されてもよい直鎖状または分岐鎖状の $\text{CH}_3\text{C}_n\text{H}_{(2n-2m)}-$ （nは、2から19の間のいずれかの整数であり、mは、不飽和数を表し、0から3の間のいずれかの整数である）または置換されてもよいアリール基であり、Cpはシクロペンタジエニル基を表す）で表される有機ジルコニウム化合物に、ジアルキル亜鉛を以下のように作用させてアルケニル化剤を調製する。

【化16】

リジン誘導体は従来法で合成することができ、例えば、(S)-セリンからGarnerらの方法（J. Org. Chem., 1987, Vol. 52, 2361, Org. Synth., 1991, Vol. 70, p. 18）によって合成することができ、また市販品を用いることもできる。

【化17】

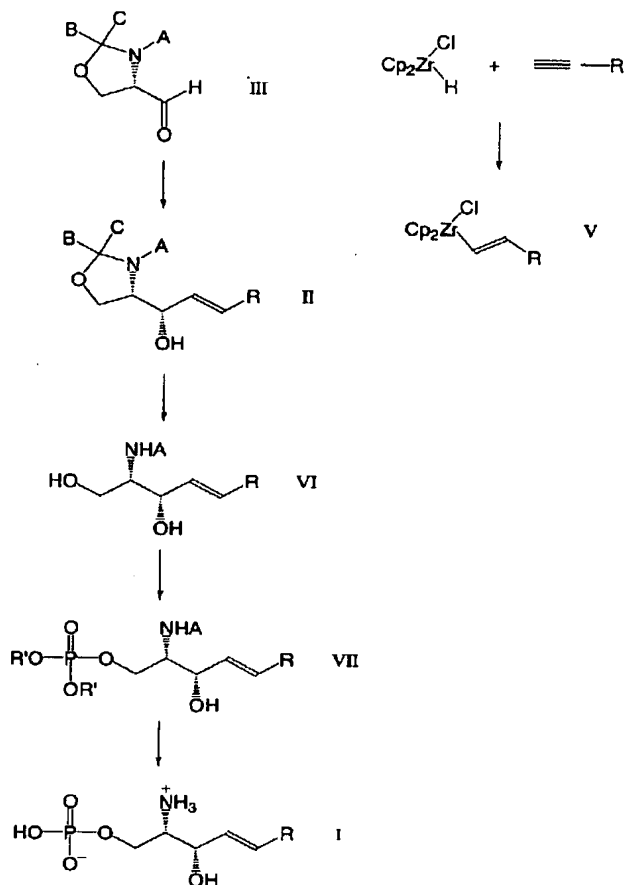


（式中AはNの保護基であり、B及びCはアルキル基（例えば、メチル基、エチル基など）または、B及びCはこれらが結合する炭素原子と一緒に環状アルキル基（例えば、シクロペンチル基、シクロヘキシル基など）を形成してもよい）ここで、Nの保護基Aとしては、例えば、ベンジルオキシカルボニル（Z）、t-ブトキシカルボニル（Boc）、t-アミルオキシカルボニル（Aoc）、イソボルニルオキシカルボニル、p-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-クロロベンジルオキシカルボニル、アダマンチルオキシカルボニル、などの基が挙げられる。好ましくは、Bocが用いられる。

##### 【0027】(2) 式Iの化合物の合成

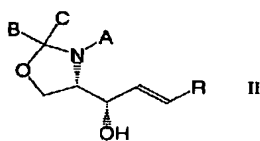
式Iの化合物の合成スキームを以下に示す。

【化18】



【0028】第1工程： 上記（1）（A）で得たアルケニル化剤と、上記（1）（B）で得た式 I I の N-保護した（S）-ホルミルオキサゾリジン誘導体とを反応させて、式 I I のスレオ体を選択的に得る。

【化19】



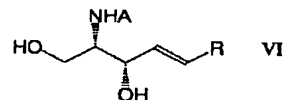
上記反応溶媒としては、スレオ体を選択的に得るためには塩化メチレンなどのハロゲン化炭化水素が好適である。反応温度は $-30\sim 30^\circ\text{C}$ 、特に $-20\sim 0^\circ\text{C}$ が好ましい。反応時間は数時間程度で十分である。これにより天然型と水酸基の立体配置が異なるスレオ体 I I が選択的（スレオ/エリスロ=9/1以上）に得られる。

【0029】次に、式 I I 化合物に対し、下記に示す第2-4工程に対応する、①アセタール型保護基の除去、②1級水酸基の選択的リン酸エステル化、③全保護基の除去、の3工程の順序で行うことによりスレオ体を得る簡便な製造法が本発明により確立された。以下に詳しく説明する。なお、特表平8-500816号公報、Bioorg. Me

d. Chem. Lett., 1992, Vol. 2, p. 973記載のエリスロ体を製造する方法と同様の方法を用いることにより化合物 I I からスレオ型式 I を製造することができるが、この方法では2級水酸基の保護を要するため5工程であり、各工程間でクロマトグラフィーによる精製を要し、操作が極めて煩雑であるので、下記の方法のほうが簡便である。

【0030】第2工程： 化合物 I I のオキサゾリンを開環してアセタール型保護基を除去し、一般式 V I

【化20】

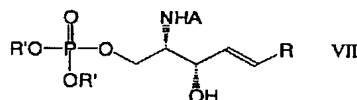


（式中のR及びAは前記と同じ）で表されるアミノ基が保護されたアルコール化合物を得る。反応は溶媒中で塩酸、p-トルエンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、強酸性イオン交換樹脂等の酸を用いて、 $-20\sim 100^\circ\text{C}$ において、数十分から数十時間で行うことができる。ただし、アミノの保護基が除去されないような反応条件を選ぶことが重要である。約90%酢酸水溶液中で約50℃に加熱して行うのが特に好ましく、数時間で反応が完

了する。

【0031】第3工程：第2工程で得られたアミノ基が保護されたアルコール化合物（化合物V I）から下記の1-リン酸類縁体（化合物V I I）へ変換する。

【化21】



（式中R及びAは前記と同じ、R'は低級アルキル基（例えば、メチル基又はエチル基）である）

上記反応は、化合物V Iの2つの水酸基のうち1級水酸基を選択的に反応させるために有効な公知のリン酸化剤を用いて行うことができる。最も簡便で好ましい方法は、以下に詳細を説明する、A. Bielawskaらにより報告された方法（Tetrahedron Lett., 2000, Vol. 41, p. 7821）である。なお、選択的リン酸化法としてホスホロアミダイト法も提案されている（A. Boumendjelら, J. Lipid. Res., 1994, Vol. 35, p. 2305）が、リン試薬を調製する必要があること、酸化の工程が必要であるので、下記方法の方が好ましい。A. Bielawskaらの方法によれば、化合物V Iに対して亜リン酸トリアルキルと四臭化炭素を有機塩基（例えば、ピリジン）中で作用させる。リン酸化剤としては亜リン酸トリメチルまたは亜リン酸トリエチルが好適であり、使用量は化合物V Iに対し1～3当量で十分である。また四臭化炭素の使用量もV Iに対し1～3当量が好適である。反応は、-20℃～50℃、好ましくは0℃～室温で、数十分間から十数時間で行うことができる。

【0032】第4工程：化合物V I Iのアミノ基及びリン酸基の各保護基を除去する。第4工程の反応は溶媒中、酸性物質を作用させて行うことができる。酸性物質としては、臭化トリメチルシラン、ヨウ化トリメチルシラン、又は塩化トリメチルシランとヨウ化ナトリウムの組み合わせ等が好適であり、使用量はV I Iに対し3～10当量、特に5～6当量が好適である。溶媒としては塩化メチレンなどのハロゲン化炭化水素が好適である。反応温度は、室温～40℃が好ましい。また、リン酸基上の保護基が、用いる酸性物質によって他の基（例えば、トリメチルシリル（TMS）基）に変換される場合には、変換された基は、反応溶媒を留去した後、反応液を酸性にし、加水分解することにより、除去することができる。最後に、濃縮後、揮発性酸性物質を共沸留去し再結晶（例えば、THF-水混合溶媒等から）することにより、純粋な化合物Iを得ることができる。結晶が析出し難い場合は、シリカゲルクロマトグラフィーによる精製を行い、必要があればさらに再結晶を行う。

【0033】

【実施例】本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、これは本発明の技術範囲を限定するものではない。

い。

（実施例1）スレオ-C15-スフィンゴシン-1-リン酸（化合物Iにおいて、R=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>）の合成

1. スレオ-C15-N-Boc-N, 10-イソプロピリデン-スフィンゴシン（化合物I IにおいてR=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>、A=Boc、B=CH<sub>3</sub>、C=CH<sub>3</sub>）の合成

アルゴン雰囲気下、水素化塩化ジルコノセン490mg（1.8 mmol）を塩化メチレン2 mlに懸濁させ、氷冷しながら、1-ドデシン（R=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>）310 mg（1.8 mmol）の塩化メチレン溶液2 mlを加え、室温下1時間攪拌して化合物Vを調製した。この反応液を-20℃に冷却した後、ジエチル亜鉛の1.0 Mヘキサン溶液1.8 ml（1.8 mmol）を加え、約10分間攪拌した。そこへアルデヒド化合物I I（A=Boc、B=CH<sub>3</sub>、C=CH<sub>3</sub>）118 mg（1.0 mmol）の塩化メチレン溶液2 mlを加え、-20～0℃で3時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルを加えてしばらく攪拌した。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルにて洗浄した。層を分離し、有機層を飽和食塩水で洗浄した後、水層をまとめて酢酸エチルで2回抽出した。有機層をまとめて無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥し、濾過・濃縮乾固を行うと淡黄色オイルが600mg残った。これをシリカゲルクロマトグラフィー

（ヘキサン/酢酸エチル=9：1→6：1→4：1）で精製することにより標題化合物を無色油状物質として350 mg（収率88%）得た。

[α]<sub>D</sub> -41.4°（c 1.26, CHCl<sub>3</sub>）

<sup>1</sup>H-NMR（C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 80℃）：δ（ppm）0.89（3H, t, J=6.6 Hz）, 1.28（16H, s）, 1.40（9H, s）, 1.45（3H, s）, 1.64（3H, s）, 1.99（2H, q, J=6.7 Hz）, 3.69（1H, d, J=6.3, 9.3 Hz）, 3.90（1H, dd, J=1.8, 9.3 Hz）, 3.95（1H, dt, J=1.5, 6.6 Hz）, 4.41（1H, t, J=7.0 Hz）, 5.53（1H, dd, J=7.1, 15.4 Hz）, 5.71（1H, dt, J=6.7, 15.4 Hz）, m/z（CI）：C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>（M+H）<sup>+</sup>としての計算値, 398.3200, 実測値 398.3212

【0034】2. スレオ-C15-Boc-スフィンゴシン

（化合物V IにおいてR=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>、A=Boc）の合成

1で得られた化合物95mg（0.24 mmol）を酢酸0.9 mlと水0.1 mlに溶かし、50℃で5時間攪拌した。溶媒留去後、ヘプタン1 mlを加えて濃縮乾固すると淡黄色オイルが残った。これをシリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル=2：1→1：1）で精製することにより標題化合物を無色油状物質として70 mg（収率82%）得た。

[α]<sub>D</sub> -1.6°（c 1.78, CHCl<sub>3</sub>）

<sup>1</sup>H-NMR（270 MHz, CDCl<sub>3</sub>）：δ（ppm）0.87（3H, t, J=6.7 Hz）, 1.25（14H, s）, 1.34（2H, m）, 1.43（9H, s）, 2.02（2H, q, J=6.7 Hz）, 2.82（1H, ブロード）, 3.61（1H, m）, 3.77（2H, d-様, 3.7 Hz）, 4.33（1H, m）, 5.18（1H, d, J=7.6 Hz）, 5.50（1H, dd, J=6.

3, 15.6 Hz), 5.74 (1H, dt, J = 6.7, 15.4 Hz)  
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 14.1, 22.6, 28.3, 28.4, 29.0, 29.2, 29.3, 29.5, 29.6, 31.9, 32.3, 55.5, 64.2, 73.4, 79.7, 128.9, 134.0, 156.6

元素分析値 (C<sub>20</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>4</sub>として)

実測値 (%) : C 67.08; H11.15; N 3.87

計算値 (%) : C 67.19; H10.99; N 3.92

【0035】3. スレオーC15-スフィンゴシン-1-リン酸エステル (化合物V I IにおいてR=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>、A=H、R'=CH<sub>3</sub>)の合成

窒素雰囲気下、2で得られた化合物65 mg (0.18 mmol)と四臭化炭素135 mg (0.4 mmol)をピリジン1 mlに溶かし、冷却しながら亜リン酸トリメチル50 mg (0.4 mmol)を加え、室温下5時間攪拌した。そこへ飽和塩化アンモニウム水溶液と酢酸エチルを加えてしばらく攪拌した後、層を分離した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、水層をまとめて酢酸エチルで2回抽出した。有機層をまとめて無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥し、濾過・濃縮乾固を行うと淡黄色オイルが残った。これをシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=1:1→1:2)で精製することにより標題化合物が無色油状物として59 mg (収率70%)得られ、出発物質 (2で得られた化合物)が9 mg (14%)回収された。

[α]<sub>D</sub> -5.4° (c 1.4, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0.87 (3H, t, J = 6.6 Hz), 1.25 (14H, s), 1.33 (2H, m), 1.42 (9H, s), 2.02 (2H, q, J = 6.7 Hz), 3.77 (3H, d, J = 11.2 Hz), 3.78 (3H, d, J = 11.2 Hz), 3.79 (1H, m), 4.09 (2H, m), 4.33 (1H, m), 5.03 (d, J = 9.0 Hz), 5.46 (1H, dd, J = 6.0, 15.4 Hz), 5.76 (1H, dt, J = 6.7, 15.4 Hz)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 14.1, 22.7, 28.3, 29.1, 29.2, 29.3, 29.5, 29.57, 29.61, 29.7, 31.9, 32.3, 54.0, 54.4, 54.7, 66.1, 70.0, 79.7, 128.4, 134.0, 156.0 m/z (CI): C<sub>22</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>7</sub>P (M+H)<sup>+</sup>としての計算値, 466.2863, 実測値, 466.2855

【0036】4. スレオーC15-スフィンゴシン-1-リン酸 (化合物IにおいてR=n-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>)の合成

3で得られた化合物23 mg (0.05 mmol)を塩化メチレン1 mlに溶かして冷却し、臭化トリメチルシラン50 micro L (0.3 mmol)を加え、室温下3時間攪拌した。この溶液を濃縮後、ジオキサン0.5 mlと水0.5 mlを加え、約2時間攪拌した。これを濃縮し、メタノール1 mlを加え再び濃縮した。残さ20 mgをTHF-水 (2:1)から再結晶することにより標題化合物を無色固体として12 mg (収率71%)得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CD<sub>3</sub>OD-CD<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D, 3:1) : δ (ppm) 0.87 (3H, t, J = 6.7 Hz), 1.27 (14H, s), 1.39 (2H, m), 2.07 (2H, q, J = 6.6 Hz), 3.41 (1H, m), 3.92 (1H, dd, J = 7.0, 12.1 Hz), 4.06 (1H, m), 4.17 (1H, t,

J = 7.8 Hz), 5.45 (1H, dd, J = 7.7, 15.3 Hz), 5.86 (1H, dt, J = 6.6, 15.1 Hz) m/z (CI): C<sub>15</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>5</sub>P (M+H)<sup>+</sup>としての計算値, 338.2026, 実測値, 338.2051.

【0037】(実施例2)スレオーC18-スフィンゴシン-1-リン酸 (化合物Iにおいて、R=n-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>)の合成

1. スレオーC18-N-Boc-N,10-イソプロピリデン-スフィンゴシン (化合物I Iにおいて、R=n-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>、A=Boc、B=CH<sub>3</sub>、C=CH<sub>3</sub>)の合成

実施例1の1と同様に合成した。無色油状物。収率86% [α]<sub>D</sub> -37.8° (c 0.84, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 80 °C) : δ (ppm) 0.89 (3H, t, J = 6.7 Hz), 1.31 (22H, s), 1.40 (9H, s), 1.45 (3H, s), 1.64 (3H, s), 1.99 (2H, q, J = 6.8 Hz), 3.69 (1H, d, J = 6.3, 9.0 Hz), 3.90 (1H, dd, J = 1.5, 9.3 Hz), 3.95 (1H, dt, J = 1.5, 6.6 Hz), 4.41 (1H, t, J = 7.0 Hz), 5.53 (1H, dd, J = 6.8, 15.3 Hz), 5.71 (1H, dt, J = 6.7, 15.4 Hz),

<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) 14.1, 23.0, 24.3, 27.1, 28.4, 28.5, 29.5, 29.6, 29.7, 29.9, 30.1, 32.3, 32.6, 62.5, 64.8, 74.8, 80.3, 94.6, 130.6, 134.0, 156.6 m/z (CI): C<sub>26</sub>H<sub>50</sub>NO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup>としての計算値: 440.3670, 実測値: 440.3652

【0038】2. スレオーC18-Boc-スフィンゴシン (化合物V I Iにおいて、R=n-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>、A=Boc)の合成

実施例1の2と同様に合成した。無色固体。収率80% 融点: 58~60°C

[α]<sub>D</sub> -0.7° (c 1.6, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0.87 (3H, t, J = 6.7 Hz), 1.25 (20H, s), 1.34 (2H, m), 1.44 (9H, s), 2.03 (2H, q, J = 6.8 Hz), 2.60 (1H, ブロード), 3.61 (1H, m), 3.78 (2H, d-様, 3.7 Hz), 4.34 (1H, dd, J = 2.9, 6.1 Hz), 5.18 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.50 (1H, dd, J = 6.5, 15.5 Hz), 5.74 (1H, dt, J = 6.8, 15.4 Hz)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 14.1, 22.7, 28.3, 28.4, 29.0, 29.2, 29.3, 29.5, 29.58, 29.63, 29.7, 31.9, 32.3, 55.5, 64.3, 73.4, 79.7, 128.9, 134.0, 156.6

元素分析値 (C<sub>23</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>4</sub>として)

実測値 (%) : C 69.22; H11.45; N 3.47

計算値 (%) : C 69.13; H11.35; N 3.51

【0039】3. スレオーC18-スフィンゴシン-1-リン酸エステル (化合物V I Iにおいて、R=n-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>、A=H、R'=CH<sub>3</sub>)の合成

実施例1の3と同様に合成した。無色油状物。収率65% [α]<sub>D</sub> -3.5° (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 0.87 (3H, t, J = 6.6 Hz), 1.25 (22H, s), 1.42 (9H, s), 2.02 (2H, q, J = 6.7 Hz), 3.77 (3H, d, J = 11.2 Hz), 3.78 (3



H, d, J = 11.2 Hz), 3.79 (1H, m), 4.09 (2H, m), 4.33 (1H, m), 5.03 (d, J = 9.0 Hz), 5.46 (1H, dd, J = 6.0, 15.4 Hz), 5.76 (1H, dt, J = 6.7, 15.4 Hz)  
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 14.1, 22.7, 28.3, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.58, 29.63, 29.7, 31.9, 32.3, 54.3, 54.5, 54.6, 66.2, 70.1, 79.7, 128.4, 134.0, 156.0 m/z (CI): C<sub>25</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>7</sub>P (M+H)<sup>+</sup>としての計算値, 508.3333, 実測値, 508.3335

【0040】4. スレオー-C18-スフィンゴシン-1-リン酸 (化合物Iにおいて、R=n-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>) の合成  
実施例1の4と同様に合成した。無色固体。収率62%  
<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CD<sub>3</sub>OD-CD<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D, 3:1) : δ (ppm) 0.87 (3H, t, J = 6.6 Hz), 1.26 (20H, s), 1.38 (2H, m), 2.06 (2H, q, J = 6.6 Hz), 3.37 (1H, m), 3.95 (1H, dd, J = 7.0, 12.1 Hz), 4.07 (1H, m), 4.19 (1H, t, J = 7.8 Hz), 5.44 (1H, dd, J = 7.7, 15.3 Hz), 5.86 (1H, dt, J = 6.6, 15.2 Hz)

元素分析値 (C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>6</sub>Pとして)

実測値 (%) : C 56.82; H 11.35; N 3.57

計算値 (%) : C 56.97; H 10.09; N 3.69

【0041】(実施例3) スレオー-2-アミノ-3-シンナミル-1, 3-ジオール-1-リン酸 (化合物Iにおいて、R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) の合成

1. スレオー-シンナミルアルコール誘導体 (化合物I Iにおいて、R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、A=Boc、B=CH<sub>3</sub>、C=CH<sub>3</sub>) の合成

フェニルアセチレン103 mg (1.0 mmol)、水素化塩化ジルコニウム265 mg (1.0 mmol)、ジエチル亜鉛1.0 Mヘキサン溶液0.9 ml (0.9 mmol)、アルデヒド化合物I I I (A=Boc、B=CH<sub>3</sub>、C=CH<sub>3</sub>) 135 mg (0.6 mmol)を用いて実施例1の1と同様に合成したところ、標題化合物が無色油状物質として180 mg (収率92%) 得られた。

[α]<sub>D</sub> -89.1° (c 1.48, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 80 °C) : δ (ppm) 1.39 (9H, s), 1.42 (3H, s), 1.59 (3H, s), 3.67 (1H, dd, J = 6.3, 9.3 Hz), 3.94 (1H, dd, J = 2.0, 9.3 Hz), 4.02 (1H, dt, J = 2.0, 6.4 Hz), 4.60 (1H, t, J = 6.7 Hz), 6.22 (1H, dd, J = 7.1, 15.9 Hz), 6.62 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.00-7.15 (3H, m), 7.26 (2H, m)

<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 80 °C) 24.3, 27.1, 28.5, 62.5, 64.5, 74.4, 80.4, 94.6, 127.0, 127.1, 128.8, 128.9, 129.9, 132.7, 156.6 m/z (CI): C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup>としての計算値 : 334.1948, 実測値 : 334.1962

【0042】2. シンナミル型スレオー-Bocアミノアルコール誘導体 (化合物V Iにおいて、R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、A=Boc) の合成

実施例1の2と同様に合成した。化合物I I (R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) 84 mg (0.25 mmol)から標題化合物が無色固体として66 mg (収率89%) 得られた。

融点 : 78~80°C

[α]<sub>D</sub> +11.3° (c 1.32, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 1.43 (9H, s), 2.03 (2H, q, J = 6.8 Hz), 3.75 (1H, ブロード), 3.79 (1H, m), 3.85 (2H, ), 4.64 (1H, m), 5.37 (1H, d, J = 8.3 Hz), 6.27 (1H, dd, J = 5.9, 15.9 Hz), 6.69 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.22-7.42 (5H, m)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 28.2, 55.6, 63.5, 72.6, 79.9, 126.5 (2C), 127.7, 128.5 (2C), 128.8, 131.4, 136.5, 156.6

元素分析値 (C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>として)

実測値 (%) : C 65.24; H 8.03; N 4.67

計算値 (%) : C 65.51; H 7.90; N 4.77

【0043】3. シンナミル型スレオー-Bocアミノアルコールリン酸エステル (化合物V I Iにおいて、R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、A=H、R'=CH<sub>3</sub>) の合成

実施例1の3と同様に合成した。無色油状物。収率65%  
[α]<sub>D</sub> +0.9° (c 0.9, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 1.37 (9H, s), 3.76 (3H, d, J = 11.2 Hz), 3.78 (3H, d, J = 11.1 Hz), 3.93 (1H, m), 4.15 (2H, m), 4.58 (1H, m), 5.12 (d, J = 8.3 Hz), 6.20 (1H, dd, J = 5.4, 16.0 Hz), 6.70 (1H, d, J = 16.0 Hz), 7.18-7.40 (5H, m)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 28.2, 54.3, 54.5, 54.6, 66.0, 66.9, 79.8, 126.5 (2C), 127.6, 128.3, 128.5 (2C), 131.6, 136.6, 156.0 m/z (CI): C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>7</sub>P (M+H)<sup>+</sup>としての計算値 : 402.1611, 実測値 : 402.1632

【0044】4. スレオー-2-アミノ-3-シンナミル-1, 3-ジオール-1-リン酸 (化合物Iにおいて、R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) の合成

実施例1の4と同様に合成した。反応後の濃縮物からは結晶化できなかったため、シリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒 : n-ブタノール/酢酸/水 = 6 : 1 : 1) により精製した。無色固体。収率41%

<sup>1</sup>H-NMR (270 MHz, CD<sub>3</sub>OD-CD<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D, 4:1) : δ (ppm) 3.65 (1H, m), 4.03 (1H, m), 4.14 (2H, m), 6.22 (1H, d, J = 6.0, 16.0 Hz), 6.80 (1H, d, J = 16.0 Hz), 7.22-7.40 (5H, m)

【0045】(実施例4) Edg受容体応答性試験

HL 60細胞を細胞銀行より入手し、BBRC '98, 263, p. 253記載の方法に従って、10%ウシ胎児血清を含有したRPM I -1640培地 (Gibco)を用いて約50継代培養し、Edg受容体を細胞表面に発現している前骨髄芽腫細胞株 HL60を調製した。このEdg受容体を細胞表面に発現している HL60を用いて、被験物質の細胞応答性を検討した。細胞応答の指標として、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇を測定した。なお、HL60細胞表面上のEdg受容体は、SPN - 1 Pと結合すると、Gタンパク質をリン酸化し、IP<sub>3</sub>キナーゼを活性化した後細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇する事が報告されている (FEBS Letter '96, 379, p. 260, BBRC '98, 253, p.

253)ので、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度がEdg受容体応答性の指標となる。 $\text{Ca}^{2+}$ キレート試薬Fura - 2 AMをHL 60細胞に取り込ませた。石英製セル内に細胞懸濁液 1.2 mlを充填し、蛍光光度計 LS - 50 B (パーキンエルマー、細胞測定用)に装着し、0.5秒毎に励起波長を340 nm ( $\text{Ca}^{2+}$ をキレートしたFura - 2を励起)と380 nm (未反応Fura - 2を励起)に交互に切り替え、510 nmの蛍光光度を測定した。被験物質(実施例1、2または3の化合物)を30 microM終濃度で、マイクロシリンジを用いて加えた後蛍光光度を追跡して $\text{Ca}^{2+}$ が増加するかどうか検討した。また、被験物質添加後に1 microMのSPN - 1Pを追加した際、 $\text{Ca}^{2+}$ が増加するかどうか確認し、各物質のSPN - 1P拮抗性について検討した。実施例1または2の化合物を添加した後、SPN - 1P追加による細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度増加が阻止された事より、これらの物質がEdg拮抗性である可能性が示唆された。次に、拮抗の可能性が示唆された実施例1、2または3の化合物による細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 増加阻止作用の用量依存性を検討した。対照として、既に拮抗作用が確認されているスラミンを用いた。実験手法は、各濃度の被験物質添加後 SPN - 1P (1 micro M)を添加した以外は上述と同様に行った。また、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度増加は、陰性対照群(薬剤無添加)での $\text{Ca}^{2+}$ 増加濃度に対する相対値として、 $\text{Ca}^{2+}$ 増加濃度%で評価した。その結果、実施例1の化合物が0.003~0.03 microM濃度において、実施例2の化合物および実施例3の化合物が0.01~0.1 microM濃度において、用量依存的にSPN - 1Pによる $\text{Ca}^{2+}$ 濃度増加を抑制した。その結果を図1に示す。また、細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 増加の50%阻止濃度 ( $\text{ED}_{50}$ 値)が、実施例1の化合物で  $0.015 \pm 0.007$  microM、実施例2の化合物で  $0.030 \pm 0.002$  microM、実施例3の化合物で  $0.037 \pm 0.014$  microMであったが、既にEdg拮抗性が報告されているスラミンの  $\text{ED}_{50}$ 値  $1.8 \pm 0.1$  microMと比較すると実施例1の化合物の作用強度は凡そ100倍、実施例2の化合物の作用強度は凡そ60倍強かった。その結果を表1に示す。

【表1】

Ca <sup>2+</sup> 増加の 50%阻止点		
物質		ED <sub>50</sub> (micro M)
陽性対照	スラミン	1.8±0.1
	実施例 1	0.015±0.007
被験物質	実施例 2	0.030±0.002
	実施例 3	0.037±0.014

【0046】(実施例5) 血管平滑筋に及ぼす作用被験物質について血管平滑筋増殖への作用を検討した。動脈硬化症の進行に伴って血管平滑筋細胞が収縮型から合成型に形質転換し、炎症性サイトカインを分泌しながら

血管平滑筋細胞が増殖し動脈硬化巣が進展すると考えられている(ロスの仮説)。血管平滑筋細胞の表面にはEdg受容体が発現している事が報告されており(The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics' 00, Vol. 58, 449頁)、SPN - 1Pと同様、Edg受容体に作用するスフィンゴシルフォスフォルコリンに反応して血管平滑筋細胞が増殖する事が報じられている(The American Physiological Society 98, C1255頁)。従って、今回、実施例1の化合物による血管平滑筋増殖への作用を検討した。陽性対照として、Edg受容体拮抗性が確認されているスラミンを用いた。ラット頸動脈内膜をバルーニングによって擦過し、2週間後にエクスプラント法(Explant culture)によって調製した血管平滑筋細胞を10%牛胎児血清を含んだDMEM培地(Gibco)にて培養し、数回継代し安定させた後、 $5 \times 10^3$ 細胞/cm<sup>2</sup>の細胞密度に蒔種し実験に用いた。増殖因子スフィンゴシルフォスフォルコリン(10 microM)と併せて実施例1の化合物、或いはスラミンを上記細胞に添加し、24時間後、BrdUアッセイ(Science '82, 218, p. 474)によって細胞密度を測定した。その結果、実施例1の化合物は0.3~3 microM濃度において、用量依存的に血管平滑筋細胞増殖を抑制した。なお、陽性対照として用いたスラミンについては30、100 microM濃度において血管平滑筋細胞増殖を抑制した。その結果を図2に示す。

【0047】(実施例6) <sup>3</sup>H - SPN - 1Pを用いた競合実験

実施例4と同じEdg受容体を細胞表面に発現している前骨髄芽腫細胞株HL 60を用いた。HL 60細胞を遠心分離によって回収後F-12培地(4℃保存、10 ml)に懸濁し、RI実験室に搬入した。細胞懸濁液200 micro l ( $1 \times 10^6$  細胞/ml F-12)に、終濃度1 nMの<sup>3</sup>H - SPN - 1P(15 micro Ci/1 mM)と終濃度100 nMの非標識化合物(実施例1化合物、実施例2化合物、実施例3化合物)を加え、4℃にて30分間(時々攪拌して)結合試験を行った。7分間12,000 rpmにて遠心分離後、上澄を素早く(細胞ペレットを傷付けない様に)マイクロピペッターで捨て去り、細胞ペレットをレディソルブ(ベックマン)1.5 mlで懸濁後バイアルに移し液体シンチレーションカウンターL 2100(ベックマン)で放射活性を測定した。その結果を以下の表2に示す。この結果より、SPN - 1Pと同様、実施例1化合物、実施例2化合物、実施例3の化合物が、<sup>3</sup>H - SPN - 1Pに競合した事より、これらの物質がEdgと特異的に結合していると考えられた。

【表2】

物質	非標識物質( 100 nM)	結合した <sup>3</sup> H-SPN-1P (DPM)
陰性対照	—	1323± 81
陽性対照	SPN - 1 P	975± 45*
	実施例 1 化合物	1023± 66*
	実施例 2 化合物	843± 127*
	実施例 3 化合物	1102± 379*

【0048】（実施例7）<sup>(\*, p≤0.05)</sup> \*：陰性対照に対し、疑似血管モデルを用いた炎症試験

体内の損傷部位で、露出を受けたコラーゲン（細胞外マトリックス）が損傷シグナルとして標的になり、血小板が凝集してくるが、凝集して活性化した血小板から放出される PDGFなどの炎症性サイトカインは、炎症を進行させ、また重度の炎症は循環器の恒常性を破綻させ、動脈硬化を進行させると考えられている。SPN-1Pも、PDGFと同様の作用を有すると考えられている。そこで、SPN-1Pを炎症惹起剤として用いて、疑似血管 in vitroモデルを確立し、そのモデルを用いて、本発明化合物が抗炎症作用を示すかどうか、それによって循環器の恒常性を維持し、病態を改善する方向に作用する可能性があるか否か検討した。

【0049】（1）疑似血管 in vitro炎症モデルの確立

3 μm孔の多孔膜により上室と下室とに区切られたトランスウェルを用い、トランスウェル上室底面の孔膜上に一層のウシ内皮細胞を培養し、トランスウェル上室に蛍光標識した好中球浮遊液を加え、下室にSPN-1Pを終濃度 0.1～10μMとなるように懸濁した。即ち、トランスウェルの上室と下室は内皮層を隔てて隔離され、上室が血管内部、下室が血管外の炎症部に対応する疑似血管 in vitro炎症モデルとなっている。上室から内皮層を潜り抜けて下室へ透過した好中球数、及び、内皮層に粘着した好中球数を530nmの蛍光強度より測定し、相対的好中球数を以下のように算出した。

相対的好中球数%=[実験群での好中球（透過及び粘着）数]/[コントロールでの好中球（透過及び粘着）数]×100

（コントロールは、SPN-1P無添加の場合である）。

その結果、SPN-1P 10 μMにて、有意に好中球の内皮層透過、及び、粘着が促進を受けた（図3参照）。つまり、SPN-1Pが炎症惹起物質として作用していると考えられた。

【0050】（2）炎症細胞 - 血管内皮細胞相互作用に及ぼす本発明化合物の作用

危険率p≤5%にて有意に抑制

次に、上記疑似血管 in vitro炎症モデルを用いて、好中球と血管内皮細胞との相互作用に、実施例2の化合物がどのように影響するか検討した。即ち、トランスウェル下室に実施例2の化合物を 0.01～1 μMで添加し、SPN-1P 10 μMを下室に入れて炎症を惹起した。コントロールは、薬剤無添加で上記と同様に炎症を惹起したものを用いた。内皮層に粘着した好中球数、或いは内皮層を抜け下室へ透過した好中球数を530nmの蛍光強度より測定し、相対的好中球数を上記式より算出した。その結果を図4に示す。図に示されるように、実施例2の化合物は、好中球透過及び粘着を抑制した。従って、疑似血管 in vitroモデルに於て、SPN-1Pを炎症惹起剤として用いた場合、実施例2の化合物は抗炎症的に作用する事より、循環器の恒常性を維持し、病態を改善する方向に作用する可能性が考えられる。

【0051】

【発明の効果】本発明の化合物は、優れたEdg受容体拮抗作用を示し、本発明の化合物を有効成分とする医薬は循環器系疾患（例えば、動脈硬化症、心臓疾患）、がん、リウマチ、糖尿病性網膜症、呼吸器系疾患に対して優れた予防または治療効果を示す。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の化合物が用量依存的にEdg拮抗性を示すグラフである（スラミン：対照）。

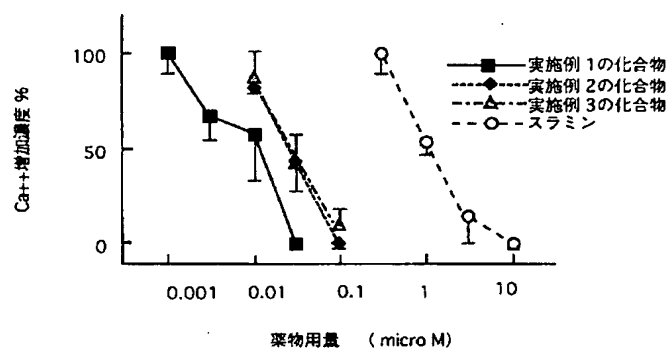
【図2】本発明の化合物が用量依存的に血管平滑筋細胞増殖の抑制作用を示すグラフである（スラミン：対照）。図中、白四角は、被験物質をいれない場合のデータであり、また、\*：陰性対照に対し、危険率p≤5%にて有意に抑制、\*\*：陰性対照に対し、危険率p≤1%にて有意に抑制を示す。

【図3】内皮細胞-好中球相互作用に及ぼすSPN-1Pの作用を示す。

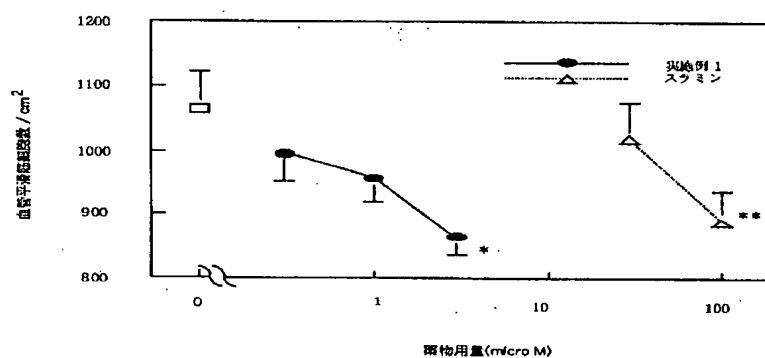
\*：薬剤無添加のコントロールと比較して危険率 5%にて有意に促進

【図4】本発明化合物が好中球の血管内皮細胞への移動に抑制的に作用していることを示すグラフである。

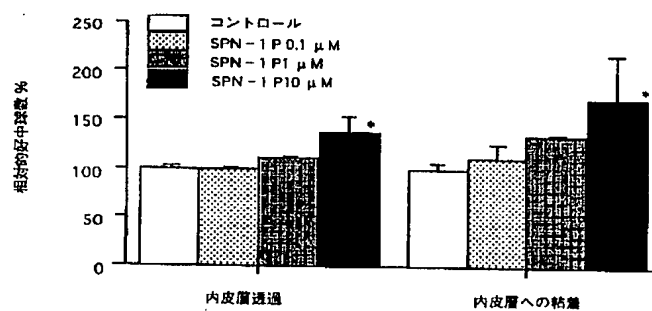
【図 1】



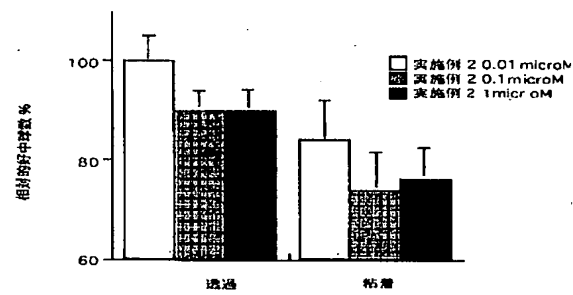
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>		識別記号	F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 P	11/00		A 6 1 P 11/00		
	27/02		27/02		
	29/00	1 0 1	29/00	1 0 1	
	35/00		35/00		
(72) 発明者 西川 正純			F ターム (参考)	4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 DA34	
茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会				MA01 MA04 NA14 ZA33 ZA36	
社中央研究所内				ZA37 ZA40 ZA45 ZA59 ZA96	
(72) 発明者 村上 悌一				ZB15 ZB26	
茨城県つくば市東1-1-1 独立行政法				4H050 AA01 AA02 AA03 AB20 AB23	
人産業技術総合研究所 つくばセンター内				AB25 AB27 AB28 AC40 AC80	
				BD70	